

НОВОЕ ИММУНОФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ БИСОЕДИНЕНИЕ

Забокрицкий Н.А.

ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук,
г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Тематика заявленной публикации посвящена актуальным вопросам экспериментального изучения нового биосоединения, в основе которого предлагаются консорциум биологически активных композитных соединений — биологически активных веществ (метабиотиков), продуцируемых штаммами 59Т и 60Т сапрофитных микроорганизмов рода *Bacillus subtilis*. Штаммы сенной палочки представляются весьма перспективными для конструирования гепатопротекторов — новых лекарственных кандидатов — в создании и разработке нового фармакологического класса гепатопротекторов. На сегодняшний день весьма эффективными соединениями являются продуцируемые биологически активные вещества — метаболиты бактериального происхождения, на основе которых представляется целесообразным создание нового класса препаратов — метабиотиков. Отсутствие в таких соединениях вегетативных пробиотических клеток позволит снизить дополнительную иммунную нагрузку на организм. В ранее проведенных исследованиях были показаны безопасность и гепатопротективное действие вышеуказанных биологически активных соединений. Сочетанное применение данных соединений обеспечивает потенцированный фармакологический эффект. В связи с этим представлялось целесообразным в условиях моделирования четыреххлористым углеродом токсического поражения печени провести экспериментальную оценку иммуностропного действия биологически активных веществ (БАВ) на лабораторных животных с целью подтверждения влияния на клеточные факторы иммунитета. Целью исследования была изучить влияние сочетанного применения БАД, продуцируемых микроорганизмами сенной палочки на показатели клеточного иммунитета у лабораторных животных с острым токсическим гепатитом. Экспериментальную модель токсического поражения воспроизводили на белых лабораторных крысах при внутривенном многократном введении четыреххлористого углерода. Препаратом сравнения был зарегистрированный гепатопротекторный препарат — урсосан. Оценка иммуностропного действия проводили по таким факторам, как: фагоцитарная активность макрофагов и нейтрофилов (ФА), НСТ-тест, количественная оценка антителообразующих клеток, Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов. В результате выполненных исследований получены достоверные данные об увеличении количества Т- и В-лимфоцитов, антителообразующих клеток, а также повышении ФА, что подтверждает модуляцию звеньев клеточного иммунитета в условиях острого токсического поражения печени. Полученные данные позволяют рекомендовать изучаемое биосоединение для создания новых лекарственных кандидатов микробиологического происхождения гепатопротекторных средств с иммуностропным действием.

Ключевые слова: клеточный иммунитет, иммуностропная активность, метаболиты, сенная палочка, гепатопротекторы

Адрес для переписки:

Забокрицкий Николай Александрович
ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии»
Уральского отделения Российской академии наук
620049, Россия, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106.
Тел.: 8 (922) 110-11-14.
E-mail: pharmusma@rambler.ru

Address for correspondence:

Nikolai A. Zabokritskiy
Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch,
Russian Academy of Sciences
106 Pervomaiskaya St
Ekaterinburg
620049 Russian Federation
Phone: +7 (922) 110-11-14.
E-mail: pharmusma@rambler.ru

Образец цитирования:

Н.А. Забокрицкий «Новое иммунофармакологическое биосоединение» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 4. С. 1017-1020.
doi: 10.46235/1028-7221-16763-ANI

© Забокрицкий Н.А., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

N.A. Zabokritskiy "A novel immunopharmacological biocompound", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 4, pp. 1017-1020.
doi: 10.46235/1028-7221-16763-ANI

© Zabokritskiy N.A., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16763-ANI

A NOVEL IMMUNOPHARMACOLOGICAL BIOCOMPOUND

Zabokritskiy N.A.

Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation

Abstract. The publication is devoted to topical issues of experimental study of new biocompounds, based on the creation of a consortium of biological composite compounds – biological active substances (metabiotics) produced by strains 59T and 60T of saprophytic compounds of the genus *Bacillus subtilis*. These strains are very promising for the creation of hepatopictics, new medicinal substances, in the creation and development of a new pharmacological class of hepatoprotectors. Previous studies have shown the safety and hepatoprotective effect of biologically active drugs. It is worth noting that the very effective compounds are the produced biologically active substances – metabolites of bacterial origin, on the basis of which it seems appropriate to create a new class of drugs – metabiotics. The absence of vegetative probiotic cells in such compounds will reduce the additional immune load on the body. The combined use of these compounds provides a potentiated pharmacological effect. In this regard, it seemed appropriate, under the conditions of modeling toxic liver damage by carbon tetrachloride, to conduct an experimental assessment of the immunotropic effect of biologically active substances (BAS) on laboratory animals in order to confirm the effect on cellular factors of immunity. The purpose of the study was to study the effect of the combined use of dietary supplements produced by *Bacillus subtilis* microorganisms on indicators of cellular immunity in laboratory animals with toxic liver damage. Acute toxic hepatitis was reproduced in white laboratory rats with repeated intragastric administration of carbon tetrachloride. The comparison drug was a registered hepatoprotective drug – ursosan. The immunotropic effect was assessed using factors such as: phagocytic activity of macrophages and neutrophils (FA), NBT test, quantitative assessment of antibody-forming cells, T and B lymphocytes. As a result of the studies performed, reliable data were obtained on an increase in the number of T and B lymphocytes, antibody-forming cells, as well as an increase in FA, which confirms the activation of all parts of cellular immunity in conditions of acute toxic liver damage. The data obtained allow us to recommend the studied biocompound for the creation of new drug candidates of microbiological origin, hepatoprotective agents with immunotropic effects.

Keywords: cellular immunity, immunotropic activity, metabolites, Bacillus subtilis, hepatopictae, hepatoprotectors

Работа выполнена в рамках госзадания 122020900136-4.

Введение

На сегодняшний день хорошо известно, что медицинские иммунобиологические препараты (МИП) являются достаточно эффективными иммуностимулирующими средствами для лечения и коррекции иммунопатологических состояний [1, 2]. Известно, что одной из распространенных фармакологических групп, принадлежащих к МИП, являются пробиотики, эубиотики и метабиотики [3, 4]. Так, отечественными и зарубежными исследователями отдается предпочтение метабиотикам при разработке новых лекарственных кандидатов [4, 5, 6]. Именно отсутствие вегетативных пробиотических клеток позволяет снизить антигенную нагрузку в условиях иммунокоррекции. При этом фармакологическая активность и эффективность метабиотиков не уступает пробиотикам.

Целесообразно отметить, что сегодня активно ведется поиск новых направлений использования метабиотиков, например, иммуностимуляторов, иммунокорректоров, гепатопротекторов, иммуномодуляторов и др. [8]. В проведенных нами ранее исследованиях гепатопиктов – перспективных

биологически активных соединениях, продуцируемых микроорганизмами сенной палочки, было установлено гепатопротективные свойства. Кроме того, метаболиты штаммов 59Т и 60Т проявляли свойства индуктора -интерферона. В связи с этим, представляется целесообразным выполнить исследования по оценке иммуностимулирующих свойств на показатели клеточного иммунитета метаболитов данных штаммов в условиях острого токсического повреждения печени.

Цель исследования – изучить влияние сочетанного применения БАД, продуцируемых микроорганизмами сенной палочки на показатели клеточного иммунитета у лабораторных животных с токсическим поражением печени.

Материалы и методы

Объектом исследования являлся комплекс метаболитов (БАД) сенной палочки штаммов 59Т и 60Т в равных частях. Комплекс БАД получали в соответствии с общепринятыми и имеющимися в научной литературе методами [7]. С помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии оценивали количественное и качественное содержание биологически активных веществ, следующей рецептуры: белковый комплекс и полисахаридный комплекс 210-320 мг·г⁻¹; свобод-

ные аминокислоты и протеины – 110-190 мг·г⁻¹; гексозамин – 50-60 мг·г⁻¹; пуриновые и пиримидиновые основания (аденин 21-22 мг·г⁻¹; гуанин 3-4 мг·г⁻¹; цитозин 3-4 мг·г⁻¹; тимин 4-6 мг·г⁻¹; урацил 14-16 мг·г⁻¹); витаминоподобные вещества и витамины: пиридоксин 2,0 мг·г⁻¹; рибофлавин 2,2 мг·г⁻¹; ферментные комплексы: активность протеолитических ферментов 800-890 ед·г⁻¹; активность амилолитических ферментов 900-950 ед·г⁻¹; антибиотики и антибиотикоподобные соединения 0,09-0,4%; другие соединения < 5%.

Воспроизведение модели острого токсического поражения печени осуществляли на лабораторных животных – белых крысах линии Wistar. В течение двухнедельного срока интрагастрально белым лабораторным животным вводили четыреххлористый углерод (40% раствор расчета 2,0 дг·кг⁻¹). Критерием оценки острого гепатита были общий, биохимический анализ периферической крови и гистоморфологическое исследование.

Все животные в эксперименте были разделены на 6 групп, по 8 лабораторных животных в каждой. Первой группе назначали исследуемый БАД. Вторая группа получала метаболиты штамма сенной палочки 59Т. Третьей группе вводили метаболиты штамма сенной палочки 60Т. Четвертая группа получала препарат сравнения – урсосан. Пятая группа – контроль – острый токсический гепатит без лечения. Шестая группа – интактные животные. Лечение назначалось в течение 7 дней с момента возникновения острого гепатита. Наблюдение за подопытными животными осуществляли в течение 30 суток.

Оценку иммунотропного действия проводили по таким показателям, как: фагоцитарная активность макрофагов и нейтрофилов в НСТ-тесте, количественная оценка АОК по методу Эрне и Каннигема, Т- и В-лимфоцитов в Е-РОК тесте.

Статистическая обработка полученных данных выполняли с использованием пакетов компьютерных программ Microsoft Office Excel 2019 и Statistica 23.0. Применен метод дисперсионного анализа (ANOVA). Нормальность распределения полученных данных оценивали по методу Колмогорова–Смирнова. Использовали параметрический критерий Фишера в зависимости от нормальности распределения данных, также непараметрический W-критерий Вилкоксона при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты исследований свидетельствуют о повышении всех исследуемых показателей клеточного иммунитета с воспроизведенной моделью острого токсического гепатита во всех группах в сравнении с интактными животными. При этом поглотительная активность в НСТ тесте нейтро-

филов увеличилась в 2,2 раза, ФА нейтрофилов возросла в 3,8 раза – $59,2 \pm 0,36$ опт. ед. Отмечалось повышение Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов пости в 2,5 раза $0,62 \pm 0,11 \times 10^6 \times \text{см}^{-3}$ и $0,51 \pm 0,09 \times 10^6 \times \text{см}^{-3}$, количество АОК в 3 раза – $0,214 \pm 0,047 \times 10^6 \times \text{см}^{-3}$. Кроме того, отмечали увеличение всех исследуемых показателей у V группы, по сравнению с интактными.

Данные проведенных экспериментальных исследований показывают, что уже на 4-е сутки эксперимента в I-III группах лабораторных животных, получавших биологически активные вещества, наблюдалось существенное, по сравнению с группой III (препарат сравнения), увеличение поглотительной активности нейтрофилов в НСТ тесте в 14, 7 и 5 раз, повышение ФА нейтрофилов периферической крови в 7,4, 6,1 и 5,2 раза соответственно, увеличение количества Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов в 4,2, 3,0 и 2,8 раз. Кроме того, отмечали повышение АОК в 2,2 раза во всех трех группах.

На 9-е сутки эксперимента отмечали повышение количества Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов, а также показателя АОК без изменения ФА и поглотительной активности нейтрофилов.

В последующие сроки проведения эксперимента, а именно на 15-е и 30-е сутки наблюдения, полученные данные свидетельствовали о положительной динамике нормализации всех показателей клеточного иммунитета у подопытных животных в группах I, II, III. При этом более выраженные показатели (в 2,4 раза) отмечали в группе изучаемого БАД по сравнению с группами II и III. Более существенные отличия в 3,6 раза были по сравнению с группой IV, получавшей препарат сравнения.

Заключение

В результате проведенных исследований установлено воздействие четыреххлористого углерода на увеличение всех показателей клеточного иммунитета на ранние сроки, что подтверждается повышением количества Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов, данными НСТ теста и увеличением количества АОК.

Таким образом, на основании выполненных исследований можно сделать заключение о потенцированном действии изучаемого БАД (метаболиты двух штаммов) по сравнению с метаболитами от одного из штаммов и препаратом сравнения. В связи с этим, целесообразно в качестве будущего лекарственного кандидата рекомендовать именно сочетанное использование консорциума метаболитов двух штаммов сенной палочки.

Список литературы / References

1. Ардатская М.Д., Столярова Л.Г., Архипова Е.В., Филимонова О.Ю. Метабиотики как естественное развитие пробиотической концепции // Рецепт, 2019. Т. 2, № 22. С. 291-298. [Ardatskaya M.D., Stolyarova L.G., Arkhipova E.V., Filimonova O.Yu. Metabiotics as a natural development of a probiotic concept. *Retsept = Recipe*, 2019, Vol. 2, no. 22, pp. 291-298. (In Russ.)]
2. Забокрицкий Н.А. Оценка иммуностропного действия пробиотика бацилакт в составе трансдермальных терапевтических систем // Российский иммунологический журнал, 2017. Т. 11, № 2 (20). С. 126-129. [Zabokritskiy N.A. Preclinical evaluation of immunotropic action of probiotics bacilact transdermal therapeutic system. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2017, Vol. 11, no. 2 (20), pp. 126-129. (In Russ.)]
3. Забокрицкий Н.А. Принципиальные направления научных исследований по обоснованию и разработке новых иммунобиологических препаратов // Экспериментальная и клиническая фармакология, 2018. Т. 81. С. 85-86. [Zabokritskiy N.A. Principal directions of scientific research on the justification and development of new immunobiological drugs. *Ekspperimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya = Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology*, 2018, Vol. 81, pp. 85-86. (In Russ.)]
4. Забокрицкий Н.А., Сарапульцев П.А. Экспериментальное обоснование возможности создания нового метаболического препарата // Российский иммунологический журнал, 2018. Т. 21, № 3. С. 295-300. [Zabokritskiy N.A., Sarapultsev P.A. Experimental justification of the possibility of creating the new metabolic drug. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2018, Vol. 21, no. 3 pp. 295-300. (In Russ.)] doi: 10.31857/S102872210002398-2.
5. Забокрицкий Н.А. Фармакологическая оценка иммуностропной активности нового гелевого метабита на факторы клеточного и гуморального иммунитета при экспериментальном моделировании термических ожогов кожи // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 2. С. 125-132. [Zabokritskiy N.A. Pharmacological assessment of immunotropic activity of new gel metabiotic on cellular and humoral immunity in experimental modeled thermal skin burns. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2020, Vol. 23, no. 2, pp. 125-132. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-314-PAO.
6. Забокрицкий Н.А. Изучение цитопротекторных свойств метаболитов штамма *Bacillus subtilis* В-9909 на культуре выделенных гепатоцитов // Вестник уральской медицинской академической науки, 2022. Т. 19, № 3. С. 203-209. [Zabokritskiy N.A. Experimental evaluation of the cytoprotective effect of probiotic metabolites of *Bacillus subtilis* В-9909 strain on the culture of isolated hepatocytes. *Vestnik uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki = Journal of Ural Medical Academic Science*, 2022, Vol. 19, no. 3, pp. 125-132. (In Russ.)]
7. Лабинская А.С., Блинкова Л.П., Ещина А.С., Булаева Г.В., Вертиев Ю.В., Винокуров А.Е., Горобец О.Б., Дарбева О.С., Жиленков Е.Л., Зверьков Д.А., Иванова С.М., Иванова Т.С., Корн М.Я., Кривопалова Н.С., Лукин И.Н., Мельникова В.А., Нехорошева А.Г., Романова Ю.М., Сидоренко С.В., Скаженник В.Ю., Скала Л.З., Трухина Г.М. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований. СПб.: Лань, 2016. 588 с. [Labinskaya A.S., Blinkova L.P., Eshina A.S., Bulaeva G.V., Vertiev Yu.V., Vinokurov A.E., Gorobets O.B., Darbeeva O.S., Zhilenkov E.L., Zverkov D.A., Ivanova S.M., Ivanova T.S., Korn M.Ya., Krivopalova N.S., Lukin I.N., Melnikova V.A., Nekhorosheva A.G., Romanova Yu.M., Sidorenko S.V., Skazenik V.Yu., Skala L.Z., Trukhina G.M. General and Sanitary Microbiology with the Technique of microbiological research]. St. Petersburg: Lan, 2016. 588 p.
8. Lee N.K., Paik H.D., Kim W.S. *Bacillus* strains as human probiotics: characterization, safety, microbiome, and probiotic carrier. *Food Sci. Biotechnol.*, 2019, Vol. 28, no. 5, pp. 1297-1305.

Автор:

Забокрицкий Н.А. — д.м.н., доцент, старший научный сотрудник лаборатории иммунофизиологии и иммунофармакологии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Author:

Zabokritskiy N.A., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Senior Research Associate, Laboratory of Immunophysiology and Immunopharmacology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation

Поступила 30.03.2024

Отправлена на доработку 01.04.2024

Принята к печати 23.04.2024

Received 30.03.2024

Revision received 01.04.2024

Accepted 23.04.2024